M. Träm

1971

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität des Saarlandes

Direktor: Prof. Dr. med. W. Rummel

Speziesunterschiede der Wirkung von Dipyridamol und Hexobendin

I N A U G U R A L D I S S E R T A T I O N

zur Erlangung der Doktorwürde der

HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT

DER UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

vorgelegt von

MARTIN TRÄM

geb. am 11.11.1941 in Schiffweiler

Dekan: Prof. Dr. med. H. Kulenkampff

Referent: Prof. Dr. med. K. Pfleger

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Mündliche Prüfung 15.6. 1971.

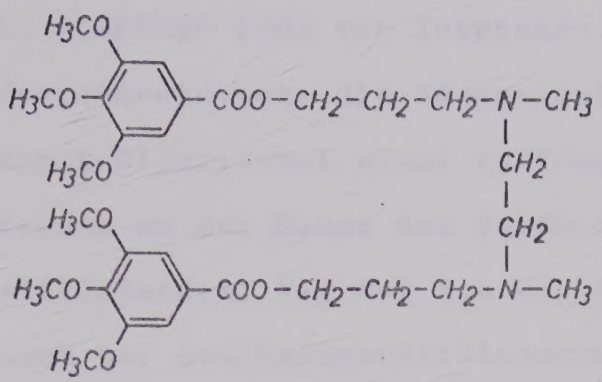
EINLEITUNG

Dipyridamol und Hexobendin werden wegen ihrer coronargefäßerweiternden Wirkung bei Durchblutungsstörungen des Herzmuskels verwendet (7, 11). BRETSCHNEIDER et al. (2, 3) vermuteten, daß diese Coronarwirkung nicht primär vom Dipyridamol ausgeht, sondern indirekt über eine Beeinflussung des Nucleotidstoffwechsels des Herzmuskels zustande kommt. BRETSCHNEIDER konnte (3) weiterhin zeigen, daß Dipyridamol die coronarerweiternde Wirkung von i. v. verabfolgtem Adenosin um das 40-fache steigert, und diskutierte die Möglichkeit einer Hemmung des Adenosinabbaues als Ursache der Verstärkung der Adenosinwirkung. KOSS und BEISENHERZ (9) kommen zu derselben Auffassung, schließen aber aus dem Ergebnis ihrer Versuche, daß Dipyridamol die Permeabilität der Erythrozytenmembran für Adenosin vermindert und daß dadurch dessen Eliminierung aus dem Blut gehemmt wird. KÜBLER und BRETSCHNEIDER (12) bestätigten diese Hypothese, indem sie nachwiesen, daß Dipyridamol die Adenosindiffusion durch die Erythrozytenmembran hemmt.

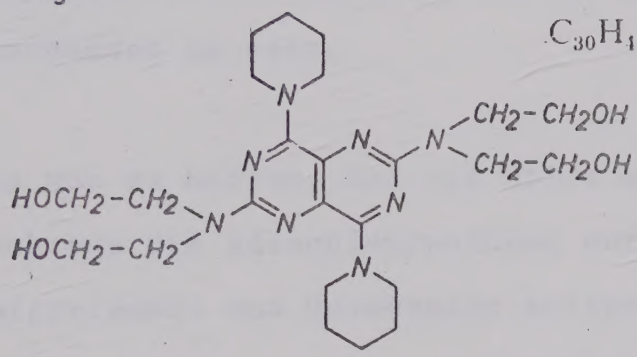
Im Gegensatz zu diesen Autoren sind GERLACH und DEUTICKE (4, 5, 6) jedoch der Ansicht, daß nicht die Hemmung des Adenosindurchtritts durch die Zellmembran, sondern die von ihnen beobachtete Hemmung der Adenosindesaminase durch Dipyridamol die Ursache der coronardilatierenden Wirkung ist. Sie weisen unter Dipyridamol einen Adeno-

sinstau im ischämischen Herzmuskel nach, der für die coronardilatierende Wirkung verantwortlich sein soll. PFLEGER und SCHÖNDORF (16) konnten neuerdings zeigen, daß Dipyridamol die pharmakologische Wirkung von i. v. zugeführtem Adenosin dadurch verstärkt, daß es dessen Elimination aus der Blutbahn hemmt. Sie konnten weiter nachweisen, daß eine Hemmung der Adenosindesaminase für diesen Dipyridamoleffekt nicht verantwortlich sein konnte. Die Versuche zeigten nämlich, daß i. v. zugeführtes Adenosin zwar desaminiert, aber noch schneller von der Lunge und anderen Organen aus dem Blut aufgenommen wird und daß dieser Eliminationsweg durch Dipyridamol verlangsamt wird.

Der coronardilatierenden Wirkung des chemisch vom Dipyridamol verschiedenen Hexobendin (Abb. 1) scheint der gleiche Wirkungsmechanismus zugrunde zu liegen. So wurde von KRAUPP (10) gezeigt, daß Hexobendin die Wirkung von i. v. verabreichtem Adenosin verstärkt, und von STORMANN (21), daß durch Hexobendin die Permeabilität von Erythrozyten für Adenosin vermindert wird. In einer neueren Arbeit von PFLEGER et al. (15) wurden die gebräuchlichsten Coronardilatatoren hinsichtlich ihres Einflusses auf die Adenosinwirkung untersucht und gezeigt, daß zumindest noch beim Lidoflazin - 1-(4,4-Bis-(4-fluorophenyl)-butyl)-4-((2,6-dimethyl-anilinocarbonyl)-methyl)-piperazin und Papaverin eine



$C_{30}H_{11}N_2O_{10}$



$C_{21}H_{40}NO_{48}$

Abb. 1: Strukturformeln von Hexobendin (oben) und Dipyridamol (unten)

Beeinflussung der Adenosinelimination als Ursache der coronarerweiternden Wirkung diskutiert werden kann.

In diesem Zusammenhang erschien ein Hinweis von A. STAFFORD (20) von Interesse, daß, im Gegensatz zum Meerschweinchen, die Adenosinwirkung an der Ratte, durch Dipyridamol nicht verlängert werden kann, gemessen an der Dauer des durch Adenosin erzeugten Herzstillstandes. Wie bei den Herzglycosiden scheinen also auch bei den Coronardilatatoren Speziesunterschiede vorhanden zu sein.

Es war zu hoffen, daß mit Hilfe solcher Speziesunterschiede die Adenosinhypothese der Coronarwirkung von Dipyridamol und Hexobendin weiter gestützt oder widerlegt werden konnte. Wenn die Hypothese nämlich zutraf, daß die beiden Coronardilatatoren durch Hemmung der Adenosinelimination aus dem Blut wirken, dann sollte sich das Fehlen einer Verstärkung der Adenosinwirkung durch Dipyridamol bei der Ratte auch durch das gleichzeitige Fehlen der Hemmbarkeit der Adenosinelimination aus dem Blut anzeigen.

Das Studium der artspezifischen Unterschiede bei Meerschweinchen und Ratte sollte aber noch eine weitere Informationsmöglichkeit bieten. Von KOSS et al. (9), STORMANN (21) und PFLEGER et al. (14) wurde gezeigt,

daß die Erythrozyten einen Aufnahmemechanismus für Adenosin besitzen, der durch Dipyridamol oder Hexobendin hemmbar ist. Unter der Voraussetzung, daß sich die Hemmbarkeit der Adenosinaufnahme durch Erythrozyten der Ratte und des Meerschweinchens wie die Verstärkung der negativ chronotropen Adenosinwirkung bei beiden Spezies verhält, sollte es möglich sein, die Hemmbarkeit der Adenosinaufnahme beim Erythrozyten des Menschen durch Dipyridamol oder Hexobendin als Maß für die Wirksamkeit dieser Substanzen beim Menschen heranzuziehen.

METHODIK

I. Beeinflussung der Herzfrequenz durch Adenosin, Dipyridamol und Hexobendin am Meerschweinchen und der Ratte in situ.

Männliche und weibliche Ratten von ca. 300 g und Meerschweinchen von ca. 400 g wurden in Nembutalnarkose (50 mg/kg) über eine Trachealkanüle mit der Atempumpe nach STARLING künstlich beatmet. In physiologischer NaCl-Lösung gelöstes Adenosin wurde durch einen Katheter in die rechte V. jugularis injiziert. Das injizierte Volumen pro Einzeldosis betrug 0,1 ml/kg, die Injektionszeit lag bei 2 Sekunden. Die Injektionen erfolgten in Intervallen von 2 Minuten. Nach Testung einer Kontrollserie von 0,05 - 1,0 mg/kg Adenosin erhielten die Versuchstiere die in den Tabellen angegebenen Dipyridamol- bzw. Hexobendindosen i. v. und wurden 3 Minuten später nochmals mit 0,05 - 1,0 mg/kg Adenosin getestet.

Die Registrierung des Elektrokardiogrammes geschah mit Hilfe von Nadelelektroden, die in die Thoraxwand eingesteckt waren, durch einen direktschreibenden Oscillographen (Grass, Modell 5).
Die Herzfrequenz wurde durch Auszählen der P-Zacken oder R-Zacken des EKG's über eine definierte Zeitspanne (3-23 Sekunden nach Injektion) ermittelt.

II. a) Adenosinelimination durch Lunge und Herz von Meerschweinchen und Ratte in situ.

Männliche und weibliche Ratten von ca. 300 g und Meerschweinchen von ca. 400 g erhielten in Nembutalnarkose (50 mg/kg) 10 µg/kg ^{14}C-markiertes Adenosin, gelöst in 0,1 ml/kg NaCl, in die vorher freigelegte Vena jugularis injiziert. 20 Sekunden später wurde der Brustraum eröffnet und Lunge und Herz entnommen. Beide Organe wurden sofort mit einem MSE-Messerhomogenisator in 25 ml 5 %iger Trichloressigsäure 60 Sekunden bei 12 000 U/Minute homogenisiert. Zur ^{14}C-Messung gelangte 1 ml des Überstandes.

b) Adenosinelimination durch das isolierte Herz der Ratte.

Herzen von ca. 300 g schweren Ratten wurden nach der LANGENDORFF-Technik (13) präpariert und mit einer Perfusionslösung folgender Zusammensetzung perfundiert: Na^+ 143 mM; K^+ 5,0 mM; Ca^{++} 2,5 mM; Mg^{++} 1,2 mM; Cl^- 139 mM; HCO_3^- 25 mM; $H_2PO_4^-$ 1,2 mM und Glucose 11,1 mM. Der Perfusionsdruck betrug 70 mm H_2O.

Die Perfusionslösung wurde vor Versuchsbeginn mindestens 20 Minuten mit Carbogen (5 % CO_2 +

95 % O_2) durchströmt, dabei stellte sich ein pH-Wert von 7,4 ein.

Dipyridamol und Hexobendin wurden in den angegebenen Konzentrationen der Persusionsflüssigkeit zugesetzt. 0,5 µg ^{14}C-markiertes Adenosin wurde in 1 ml physiologischer NaCl-Lösung gelöst und in das zum Herzen führende Schlauchsystem injiziert. 60 Sekunden später wurden die Herzen wie unter II. a) in 25 ml 5 %iger Trichloressigsäurelösung homogenisiert und 1 ml des Überstandes der ^{14}C-Messung zugeführt.

c) Adenosinaufnahme durch Erythrozyten von Ratte, Meerschweinchen und Mensch.

50 ml Blut von Mensch, Ratte und Meerschweinchen wurde unter Heparinzusatz entnommen, dreimal mit dem gleichen Volumen eiskalter physiologischer NaCl-Lösung gewaschen und mit NaCl-Lösung auf 50 ml aufgefüllt. Erythrocytensuspensionen von 2 ml wurden in Zentrifugengläser von 20 mm Durchmesser gegeben und im Wasserbad bei 17° inkubiert. Dipyridamol oder Hexobendin und 1 ug/ml Adenosin wurde zum Versuchsbeginn zugegeben. Nach 9 Minuten wurde die Probe ent-

nommen und sofort 0,1 ml (entsprechend einer Endkonzentration von 10^{-3} Mol/l) Dipyridamol zur Abstoppung der Adenosinpermeation und Desaminierung zugesetzt. Die Proben wurden weiterhin durch 5 sec Schütteln in einem Methanolbad von - 30° auf 0° C abgekühlt. Dann wurden die Proben bei 4500 U/min und 0° C 1 min lang zentrifugiert. Das Suspensionsmedium wurde mit Hilfe einer 12 cm langen, gebogenen Kanüle in mit 1 ml 5 %iger Trichloressigsäure beschickte Reagensgläser abgesaugt und durch kräftiges Schütteln mit der Trichloressigsäure gemischt. Aus der Differenz zwischen dem Gewicht der vorbereiteten Gläser mit und ohne Suspensionsmedium konnte dessen Volumen ermittelt werden. Die zurückgebliebenen Erythrocyten wurden ebenfalls sofort mit 2 ml 5 %iger Trichloressigsäure enteiweißt. Dieses Vorgehen ermöglichte innerhalb 90 - 100 sec nach Versuchsende die Erythrocyten vom Suspensionsmedium abzutrennen und die Enzyme durch Enteiweißung zu inaktivieren.

III. Radiochemische Analysen

Jeweils 1 ml Trichloressigsäureextrakt wurden mit 9 ml Scintillatorflüssigkeit versetzt. Die Scintillatorflüssigkeit enthielt im Liter: 60 g

Naphtalin, 4 g PPO, 200 Mg POPOP, 100 ml Methanol, 20 ml Glykol und 880 ml p-Dioxan (1). Die Meßansätze wurden anschließend mit Tricarb (Packard) auf ihren ^{14}C-Gehalt untersucht. Die Meßzeit betrug in der Regel 10 Minuten, mindestens wurden 1000 Impulse gezählt.

IV. Verwendete Substanzen

^{14}C-Adenosin wurde statistisch markiert mit einer spezifischen Aktivität von 523 mC/mM, von AMERSHAM, England bezogen, und mit inaktivem Adenosin auf die gewünschte spezifische Aktivität verdünnt.

Adenosin wurde uns freundlicherweise von der Firma Zellstoff-Fabrik Waldhof, Mannheim, überlassen.

Dipyridamol wurde uns freundlicherweise von der Firma Karl Thomae GmbH und Hexobendin von den Stickstoffwerken in Linz, Österreich, überlassen.

ERGEBNISSE

Die Abb. 2 zeigt zunächst die Wirkung von 50 - 250 µg/kg Adenosin auf die Herzfrequenz des Meerschweinchens. 50 µg/kg haben, wenn man von einer geringen Erhöhung der Amplitude des EKG's absieht, keinen Effekt. 100 µg/kg Adenosin führen zu einem 2 - 4 Sekunden dauernden Herzstillstand durch Ausfall des Kammerkomplexes. Bei 250 µg/kg Adenosin dauert der Herzstillstand etwa dreimal länger.

Eine Vorbehandlung der Meerschweinchen mit 500 µg/kg Hexobendin führt zu einer vielfachen Wirkungssteigerung des Adenosins (Abb. 3). Bereits 50 µg/kg Adenosin, die vorher keine Wirkung zeigten, führen zu einer Herabsetzung der Herzfrequenz, die stärker ist als nach 250 µg/kg Adenosin ohne Hexobendinvorbehandlung.

Bei einer schnellen Registrierung des EKG's läßt sich der Einfluß des Adenosins auf die Herzfrequenz weiter aufschlüsseln (Abb. 4): Ca. 3 Sekunden nach der Adenosininjektion fällt der Kammerkomplex aus. Die Vorhöfe schlagen mit etwas verminderter Frequenz weiter. Nach 12 Sekunden beginnt die Kammer unabhängig von den Vorhöfen

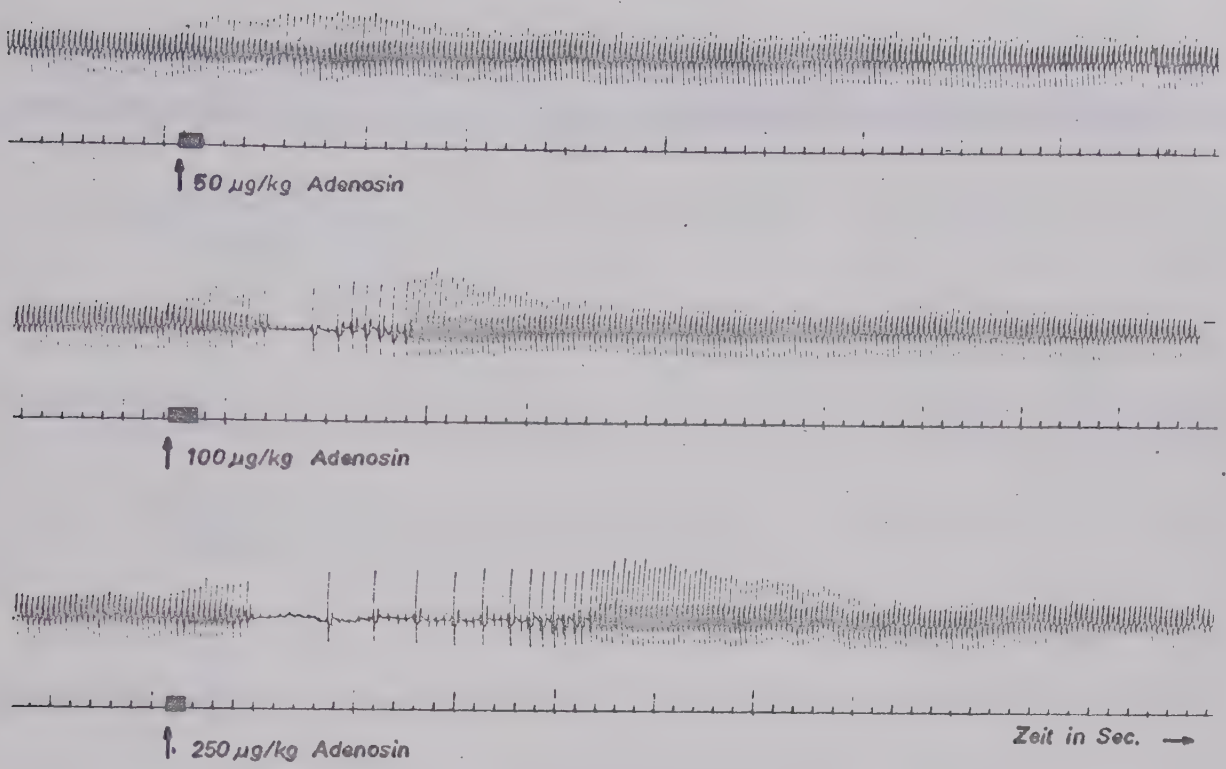


Abb. 2: Der Einfluß steigender Adenosindosen auf die Herzfrequenz des Meerschweinchens (Kontrolle).

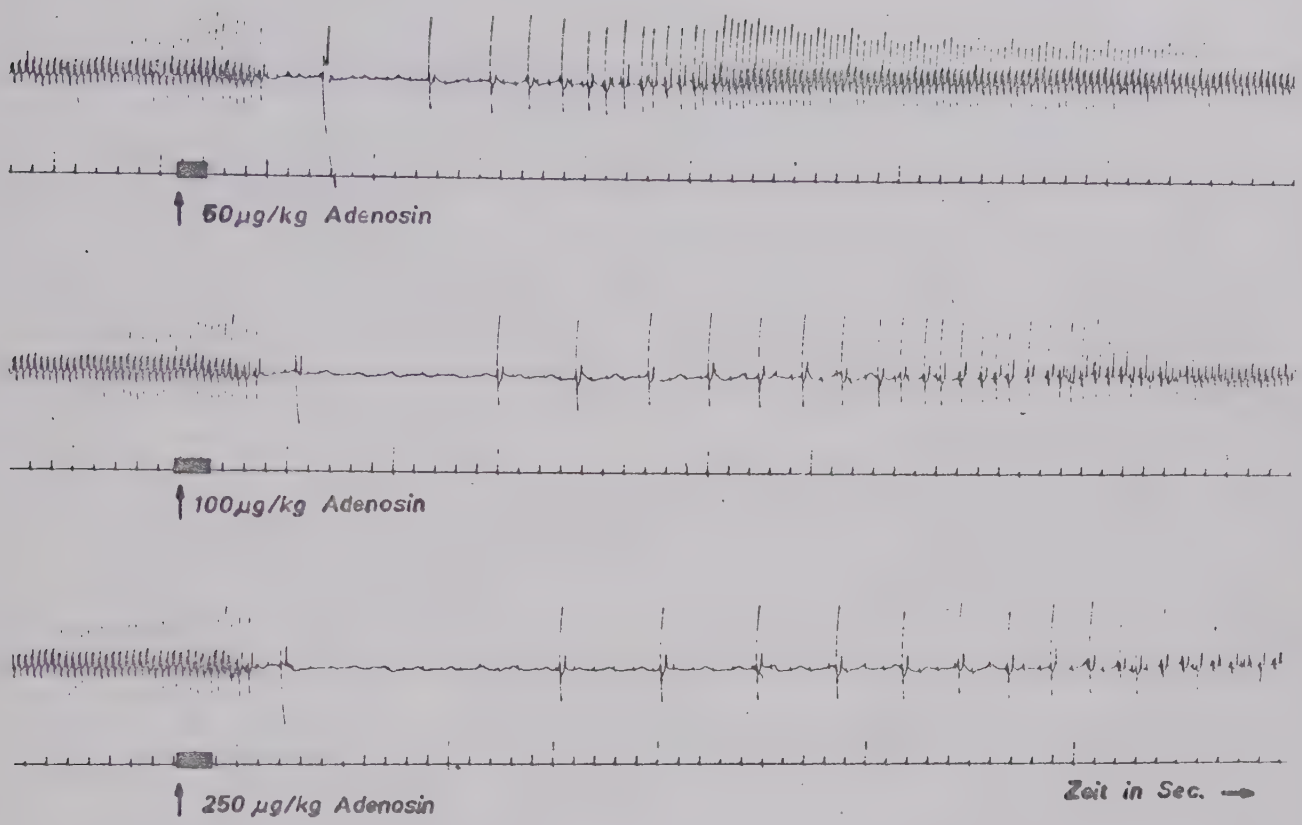


Abb. 3: Der Einfluß steigender Adenosindosen auf die Herzfrequenz des Meerschweinchens nach Vorbehandlung mit i. v. zugeführten 0,5 mg/kg Hexobendin.

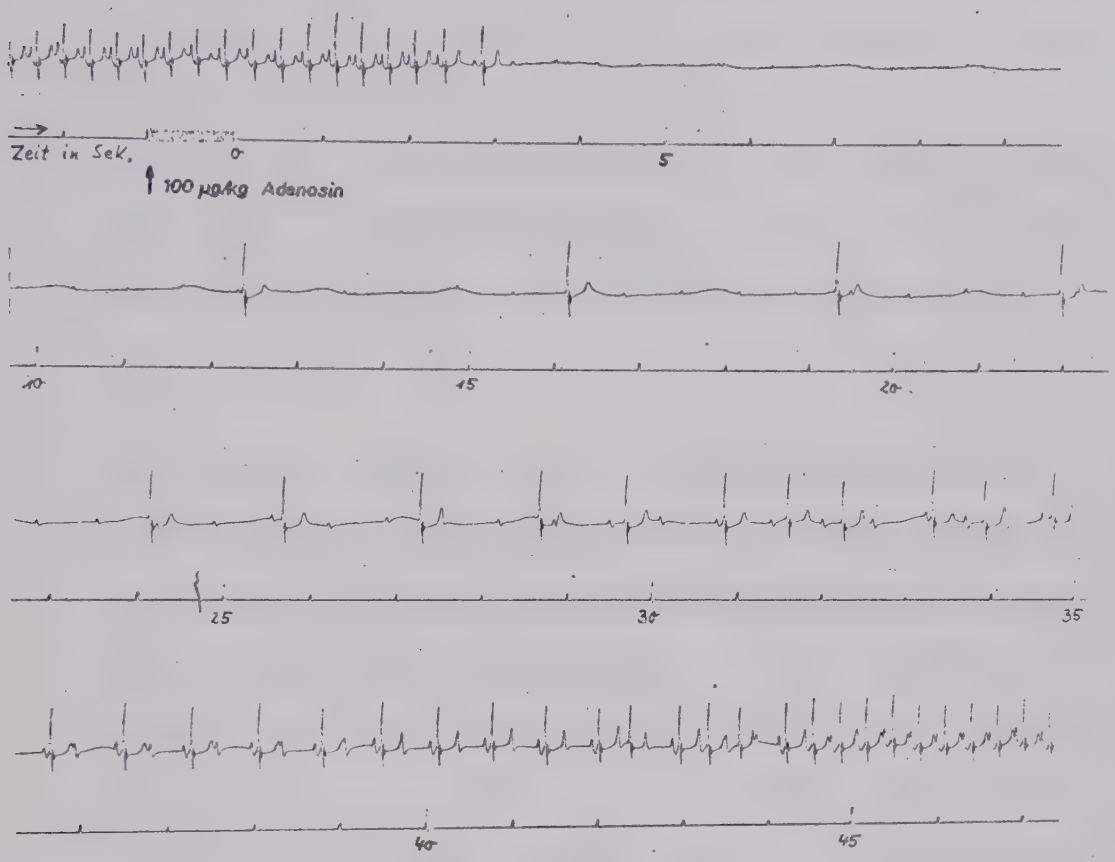


Abb. 4: EKG des Meerschweinchens bei schneller Registrierung nach i. v. Verabreichung von Adenosin und Vorbehandlung mit Hexobendin.

zu schlagen. Das EKG des Kammerkomplexes ist dabei vollständig erhalten, zum Zeichen dafür, daß die Erregungsbildung vom Aschhoff-Tawara-Knoten seinen Ausgang nimmt. Diese AV-Frequenz nimmt bis zur 30. Sekunde zu. Schließlich übernimmt der Vorhof wieder die Steuerung der Herzrhythmik, etwa in der 35. Sekunde als Bigeminie und Normalisierung nach der 45. Sekunde.

Der Verlauf des EKG zeigt, daß Adenosin zunächst die Überleitung vom Sinusknoten auf den AV-Knoten blockiert, ohne daß die Erregungsbildung im Sinusknoten wesentlich beeinträchtigt ist. Die Erregungsbildung im AV-Knoten wird dabei durch Adenosin herabgesetzt, was sich in einer stark verminderten Kammereigenfrequenz anzeigt (10. - 20. Sekunde der Abb. 4).

Um gut vergleichbare Versuchsergebnisse zu erhalten, wurde bei den folgenden Untersuchungen die Herzfrequenz registriert, und die Änderung in der Zeit von der 3. bis zur 23. Sekunde nach der Adenosininjektion durch Auszählen festgestellt.

Die Abb. 5, 6, 7 und 8 zeigen, daß beim Meerschweinchen die Herzfrequenz durch 500 µg/kg Adenosin etwa auf die Hälfte herabgesetzt wird. Durch 0,1 mg/kg Dipyridamol (Abb. 5) oder 0,1 mg/kg Hexobendin (Abb. 6) wird die Adenosinwir-

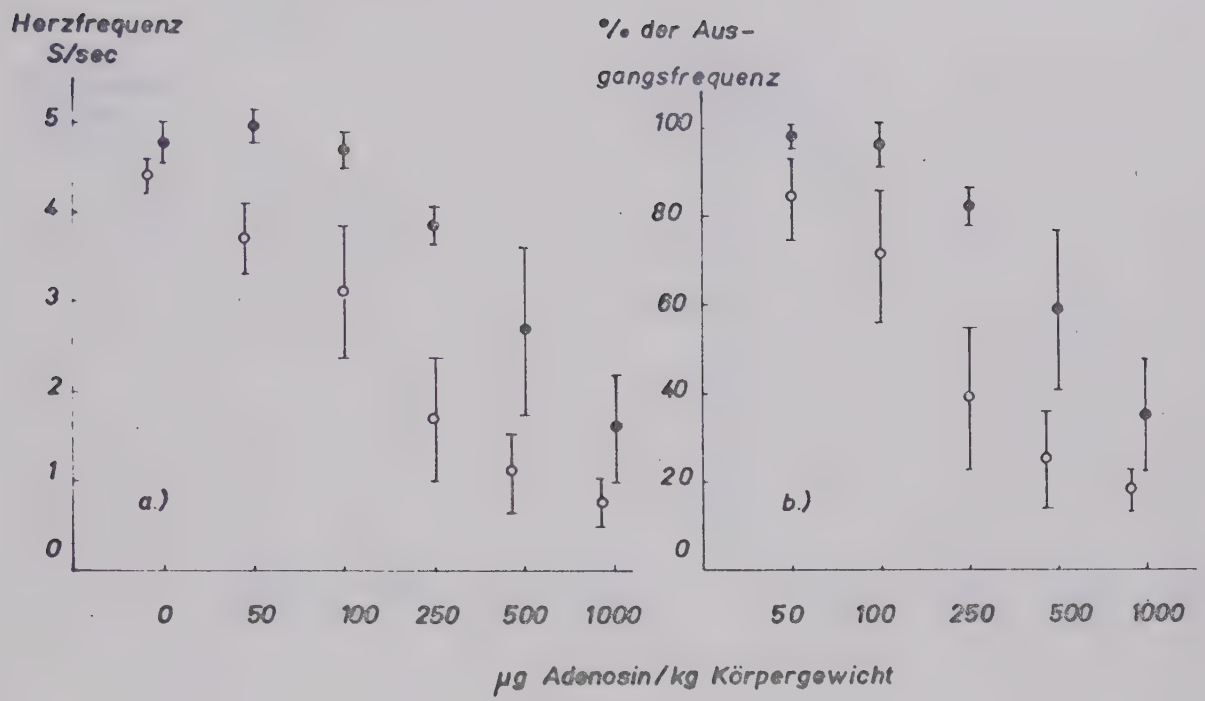


Abb. 5: Der Einfluß von Dipyridamol auf die negativ chronotrope Wirkung des Adenosin beim Meerschweinchen (gewertet wurde die Frequenz 3 bis 23 Sekunden nach der Adenosininjektion in die Vena Jugularis).

a): Absolutwerte der Frequenz

b): Frequenz in % der Ausgangsfrequenz

o : nach Dipyridamol 0,1 mg/kg

e: ohne Dipyridamol

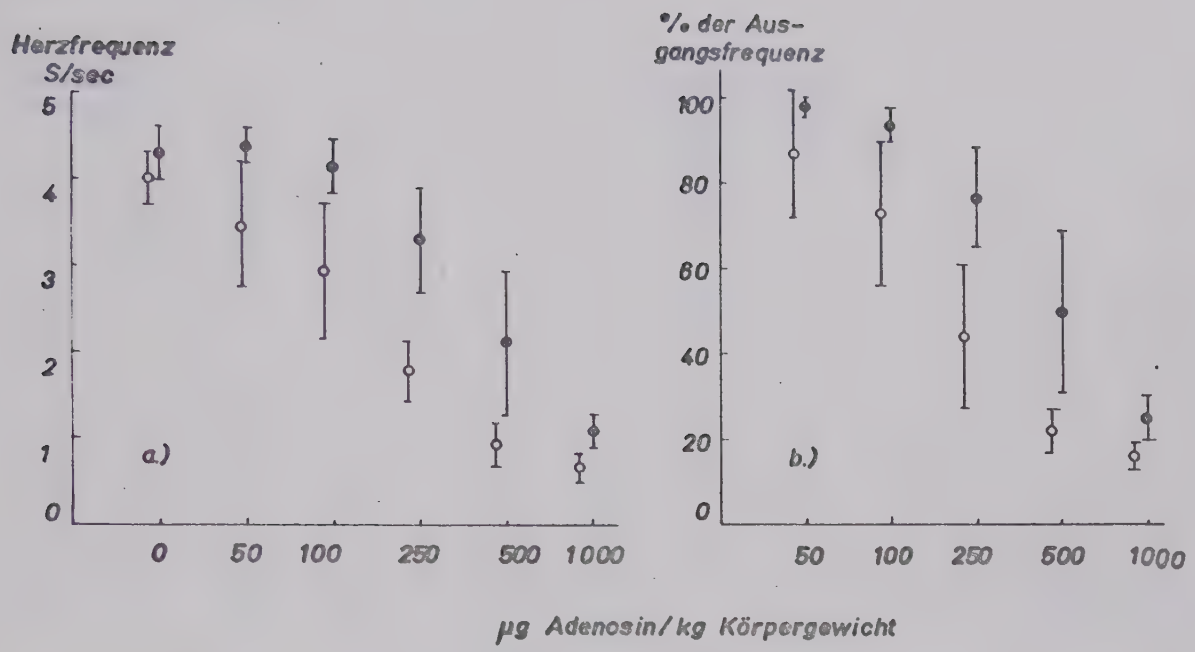


Abb. 6: Der Einfluß von Hexobendin auf die negativ chronotrope Wirkung des Adenosin beim Meerschweinchen (gewertet wurde die Frequenz 3 bis 23 Sekunden nach der Adenosininjektion in die Vena jugularis).

a): Absolutwerte der Frequenz

b): Frequenz in % der Ausgangsfrequenz

o : nach Hexobendin 0,1 mg/kg

● : ohne Hexobendin

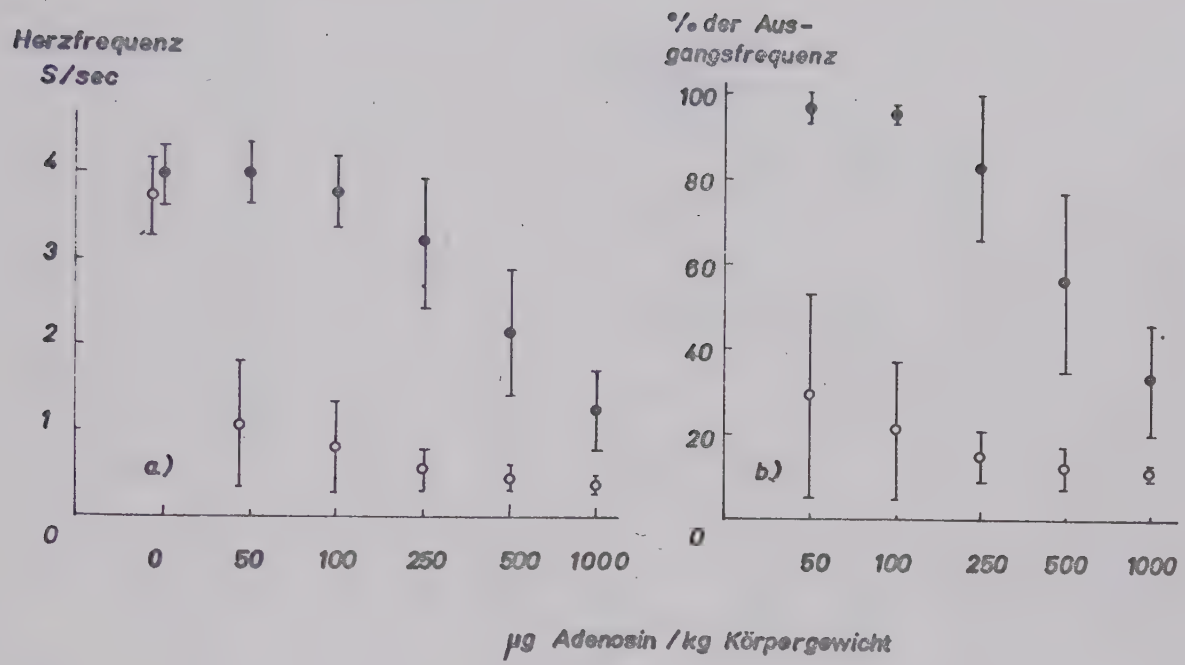


Abb. 7: Der Einfluß von Dipyridamol auf die negativ chronotrope Wirkung des Adenosin beim Meerschweinchen (gewertet wurde die Frequenz 3 bis 23 Sekunden nach der Adenosininjektion in die Vena jugularis).

a): Absolutwerte der Frequenz

b): Frequenz in % der Ausgangsfrequenz

o : nach Dipyridamol 0,5 mg/kg

● : ohne Dipyridamol

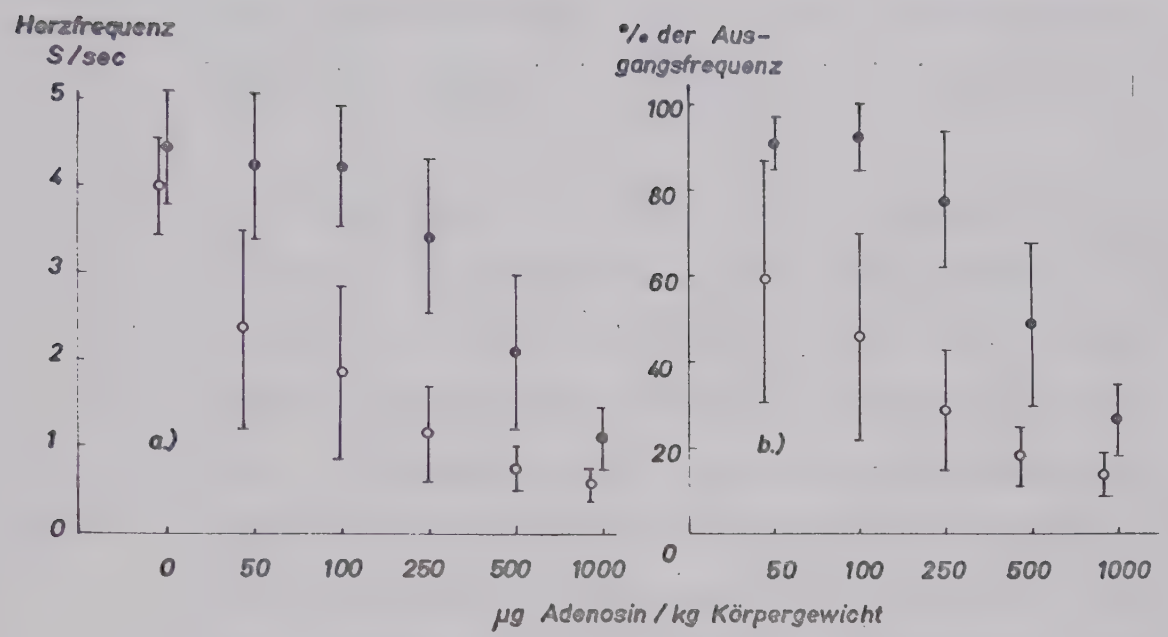


Abb. 8: Der Einfluß von Hexobendin auf die negativ chronotrope Wirkung des Adenosin beim Meerschweinchen (gewertet wurde die Frequenz 3 bis 23 Sekunden nach der Adenosininjektion in die Vena jugularis).

a): Absolutwerte der Frequenz

b): Frequenz in % der Ausgangsfrequenz

o : nach Hexobendin 0,5 mg/kg

• : ohne Hexobendin

kung etwa auf das Dreifache verstärkt. Eine fünffache Erhöhung der Dipyridamol- oder Hexobendindosis (0,5 mg/kg) führt zu einer weiteren Verstärkung der Adenosinwirkung (Abb. 7 und 8). Die Wirkung von Dipyridamol scheint dabei am Meerschweinchen etwas stärker zu sein, als die von Hexobendin.

Wie beim Meerschweinchen läßt sich auch bei der Ratte die Herzfrequenz mit 500 µg/kg Adenosin auf die Hälfte herabsetzen (Abb. 9 - 14). Bei beiden Spezies scheint also Adenosin gleich wirksam zu sein. Im Gegensatz zum Meerschweinchen kommt es aber bei der Ratte durch 2,5 mg/kg Dipyridamol oder Hexobendin - einer Dosis, die zehnmal höher ist, als die am Meerschweinchen angewendet wurde - nicht zu einer Verstärkung der Adenosinwirkung. Erst mit 22,5 mg/kg Dipyridamol wird an der Ratte die Adenosinwirkung verstärkt (Abb. 13). Mit 22,5 mg/kg Hexobendin dagegen (Abb. 14) zeigt sich sogar eine Abschwächung der Adenosinwirkung. Dies ist vermutlich darauf zurückzuführen, daß Hexobendin bei dieser hohen Dosierung bereits ohne Adenosin die Herzfrequenz der Ratte von ca. 350 Schlägen/Minute auf 165 Schläge/Minute herabsetzt.

I. v. zugeführtes Adenosin wird, wie bereits frü-

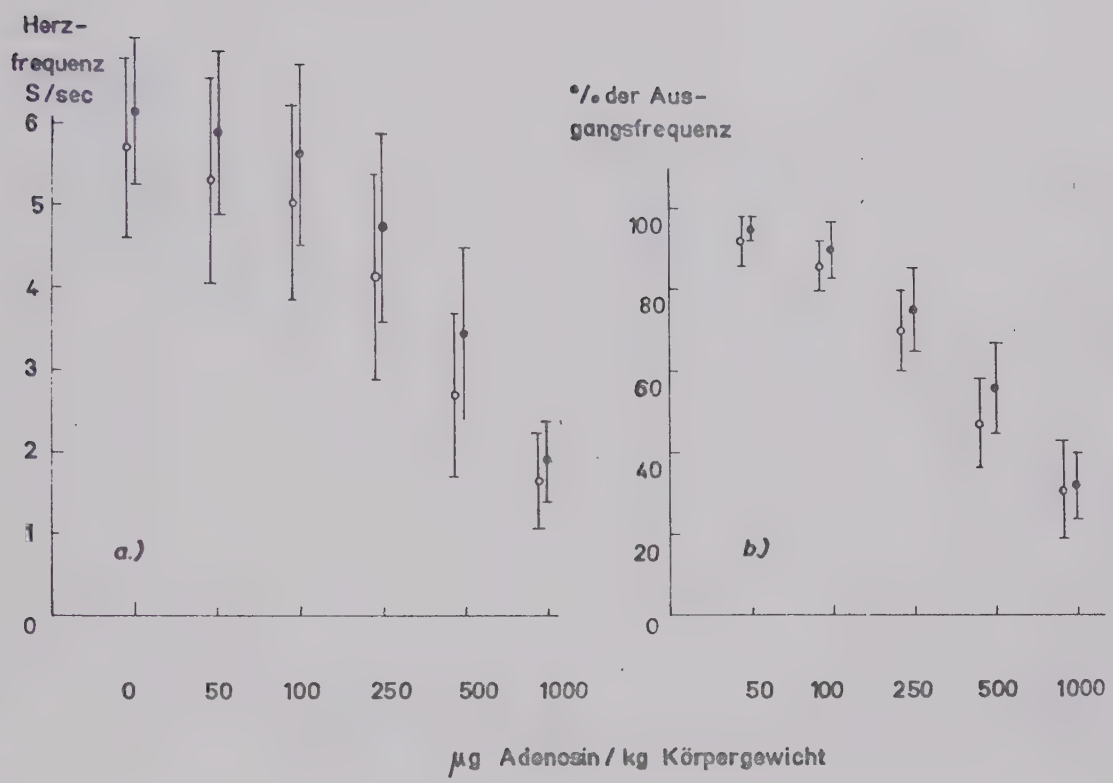


Abb. 9: Der Einfluß von Dipyridamol auf die negativ chronotrope Wirkung des Adenosin bei der Ratte (gewertet wurde die Frequenz 3 bis 23 Sekunden nach der Adenosininjektion in die Vena jugularis).

a): Absolutwerte der Frequenz

b): Frequenz in % der Ausgangsfrequenz

o : nach Dipyridamol 2,5 mg/kg

● : ohne Dipyridamol

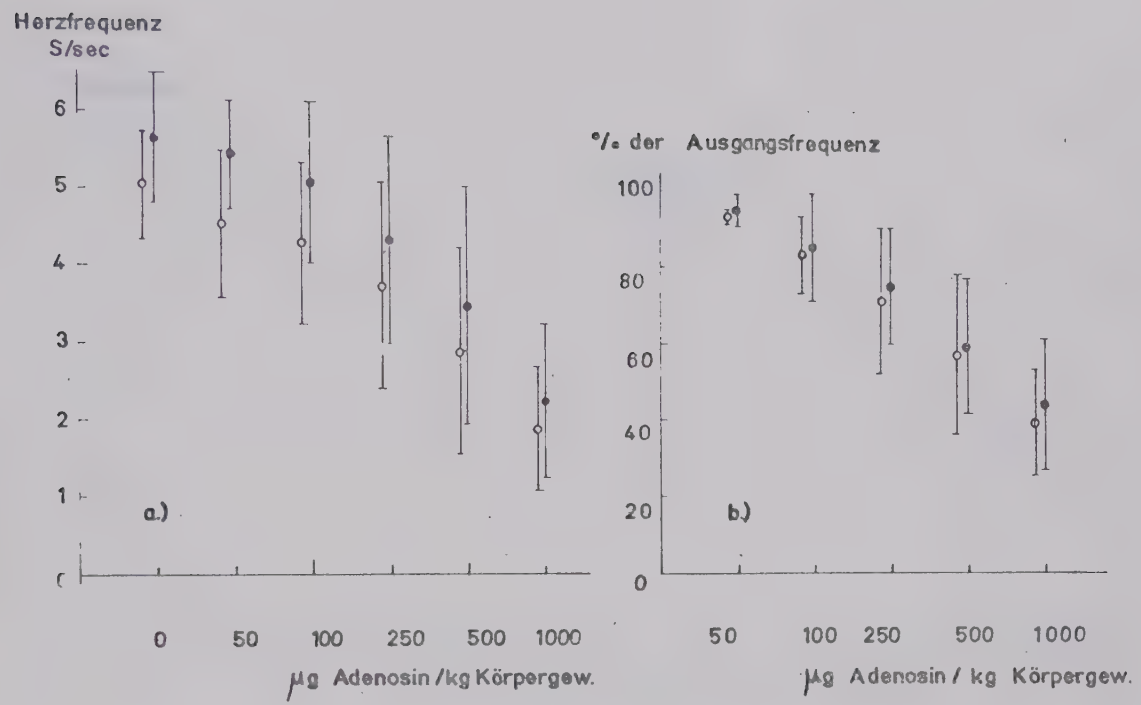


Abb. 10: Der Einfluß von Hexobendin auf die negativ chronotrope Wirkung des Adenosins bei der Ratte (gewertet wurde die Frequenz 3 bis 23 Sekunden nach der Adenosininjektion in die Vena jugularis).

a): Absolutwerte der Frequenz

b): Frequenz in % der Ausgangsfrequenz

o : nach Hexobendin 2,5 mg/kg

● : ohne Hexobendin

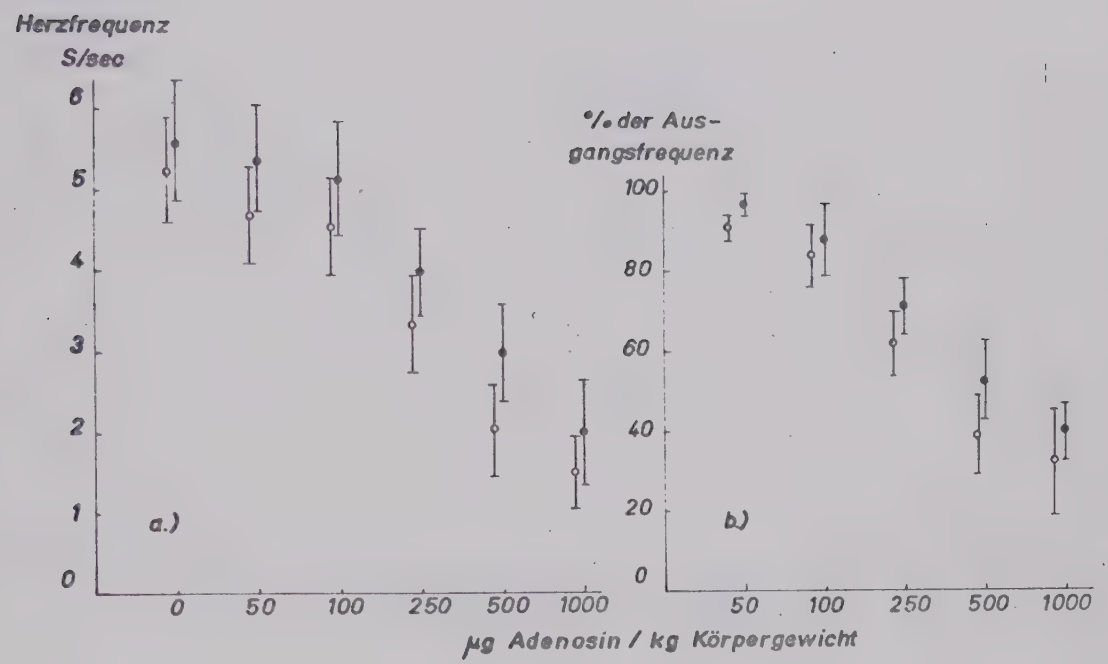


Abb. 11: Der Einfluß von Dipyridamol auf die negativ chronotrope Wirkung des Adenosins bei der Ratte (gewertet wurde die Frequenz 3 bis 23 Sekunden nach der Adenosininjektion in die Vena jugularis).

a): Absolutwerte der Frequenz

b): Frequenz in % der Ausgangsfrequenz

o : nach Dipyridamol 7,5 mg/kg

• : ohne Dipyridamol

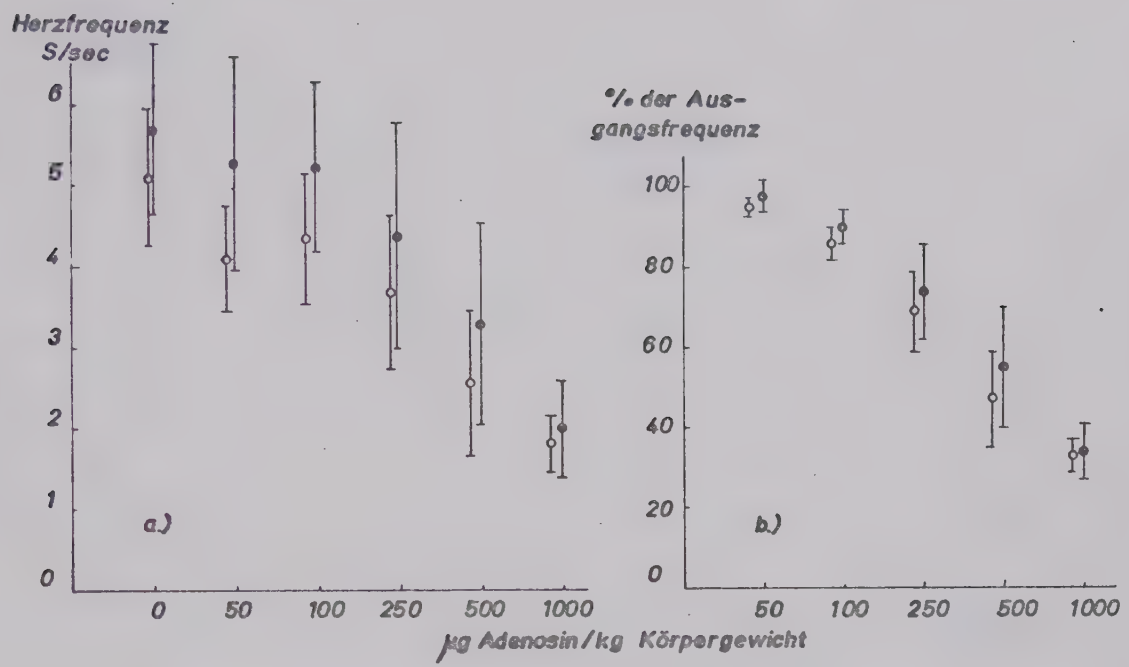


Abb. 12: Der Einfluß von Hexobendin auf die negativ chronotrope Wirkung des Adenosins bei der Ratte (gewertet wurde die Frequenz 3 bis 23 Sekunden nach der Adenosininjektion in die Vena jugularis).

a): Absolutwerte der Frequenz

b): Frequenz in % der Ausgangsfrequenz

o : nach Hexobendin 7,5 mg/kg

● : ohne Hexobendin

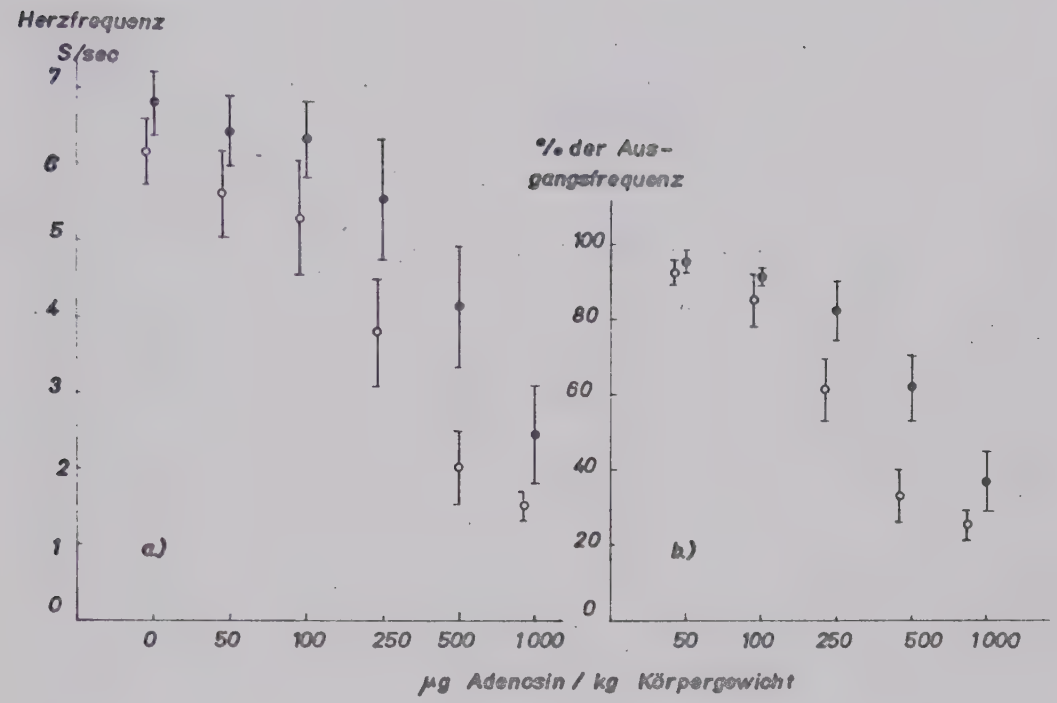


Abb. 13: Der Einfluß von Dipyridamol auf die negativ chronotrope Wirkung des Adenosins bei der Ratte (gewertet wurde die Frequenz 3 bis 23 Sekunden nach der Adenosininjektion in die Vena jugularis).

a): Absolutwerte der Frequenz

b): Frequenz in % der Ausgangsfrequenz

o : nach Dipyridamol 22,5 mg/kg

• : ohne Dipyridamol

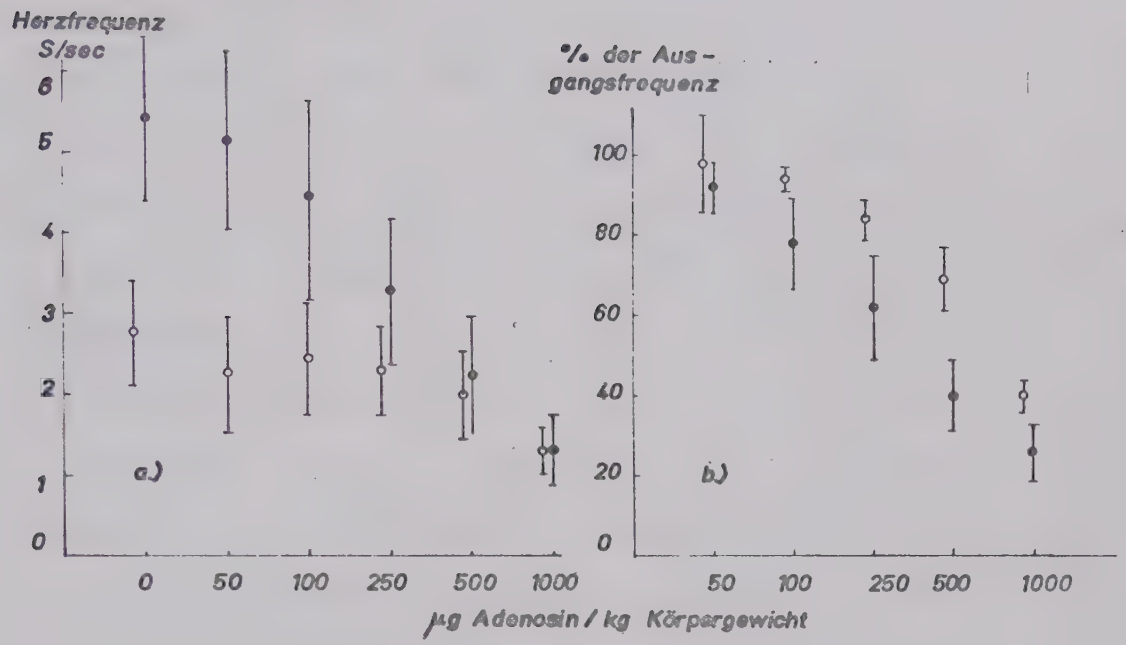


Abb. 14: Der Einfluß von Hexobendin auf die negativ chronotrope Wirkung des Adenosin bei der Ratte (gewertet wurde die Frequenz 3 bis 23 Sekunden nach der Adenosininjektion in die Vena jugularis).

a): Absolutwerte der Frequenz

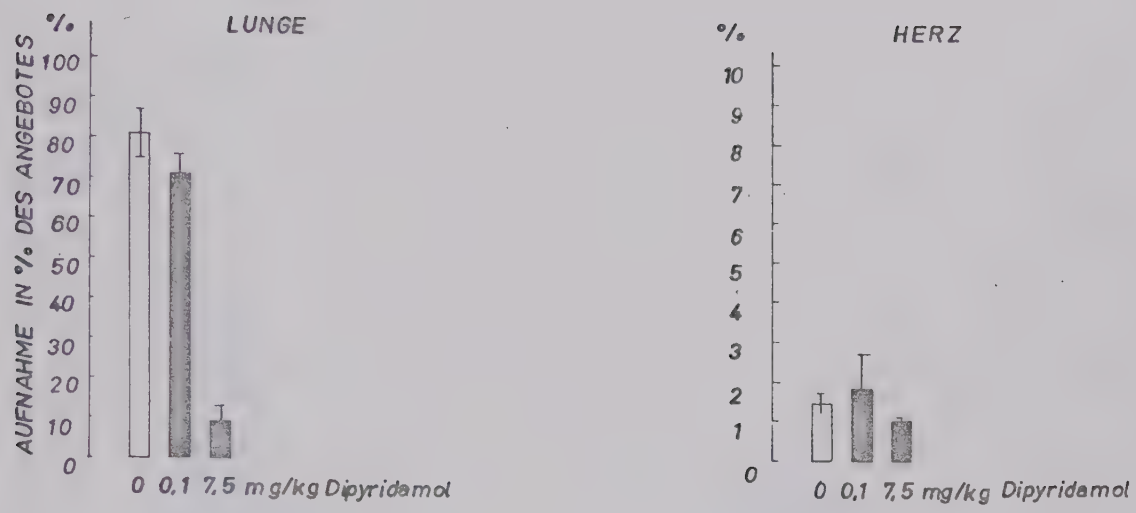
b): Frequenz in % der Ausgangsfrequenz

o : nach Hexobendin 22,5 mg/kg

• : ohne Hexobendin

here Untersuchungen gezeigt hatten (16), sehr schnell aus dem Blut eliminiert. Untersucht man die Verteilung einer kleinen Adenosindosis von 1 µg/kg nach i. v. Applikation, so findet man 20 Sekunden nach der Injektion beim Meerschweinchen 81 % (Abb. 15 und 16) und bei der Ratte 54 % (Abb. 17 und 18) in der Lunge. Beim Meerschweinchen reicht bereits eine Vorbehandlung mit 0,1 mg/kg Dipyridamol oder Hexobendin aus, um die Adenosinaufnahme in die Lunge signifikant zu vermindern. Bei der Ratte gelingt dies erst mit einer Dosis von 7,5 mg/kg Dipyridamol oder Hexobendin, d. h. der Aufnahmemechanismus für Adenosin in der Lunge ist bei der Ratte 10 - 100 mal weniger empfindlich gegen Dipyridamol oder Hexobendin als beim Meerschweinchen. Die in den Abb. 15 - 17 ebenfalls wiedergegebene Adenosinaufnahme in das Herz wird durch die an der Lunge wirksamen Dipyridamol- oder Hexobendindosen bei Meerschweinchen und Ratte eher erhöht als vermindert, wenn man von der höchsten Dosis beim Meerschweinchen absieht. Die erhöhte Aufnahme in das Herz ist als eine Folge der Aufnahmehemmung in die Lunge anzusehen, die zu einem erhöhten Adenosinangebot an das Herz führt.

Studiert man vergleichend die Aufnahme kleiner



ADENOSINAUFNAHME BEIM MEERSCHWEINCHEN

Abb. 15: Der Einfluß von Dipyridamol auf die Verteilung von i. v. zugeführtem ^{14}C-Adenosin auf Lunge und Herz beim Meerschweinchen.
(Die Tiere wurden 3 Minuten vorher mit Dipyridamol vorbehandelt. Die Adenosindosis betrug 1 µg.)

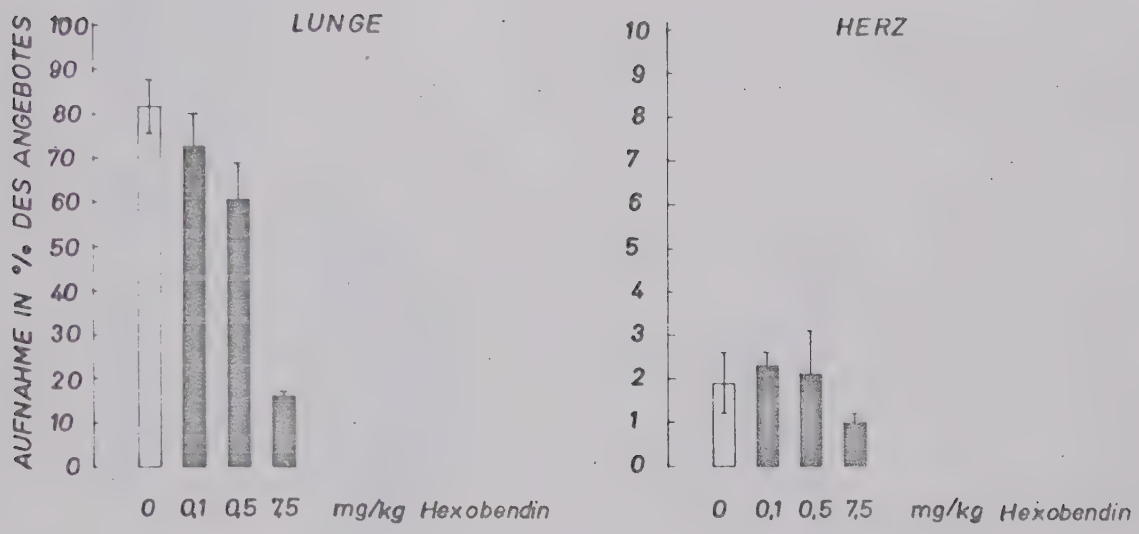


Abb. 16: Der Einfluß von Hexobendin auf die Verteilung von i. v. zugeführtem ^{14}C-Adenosin auf Lunge und Herz beim Meerschweinchen.
(Die Tiere wurden 3 Minuten vorher mit Hexobendin vorbehandelt. Die Adenosindosis betrug 1 µg.)

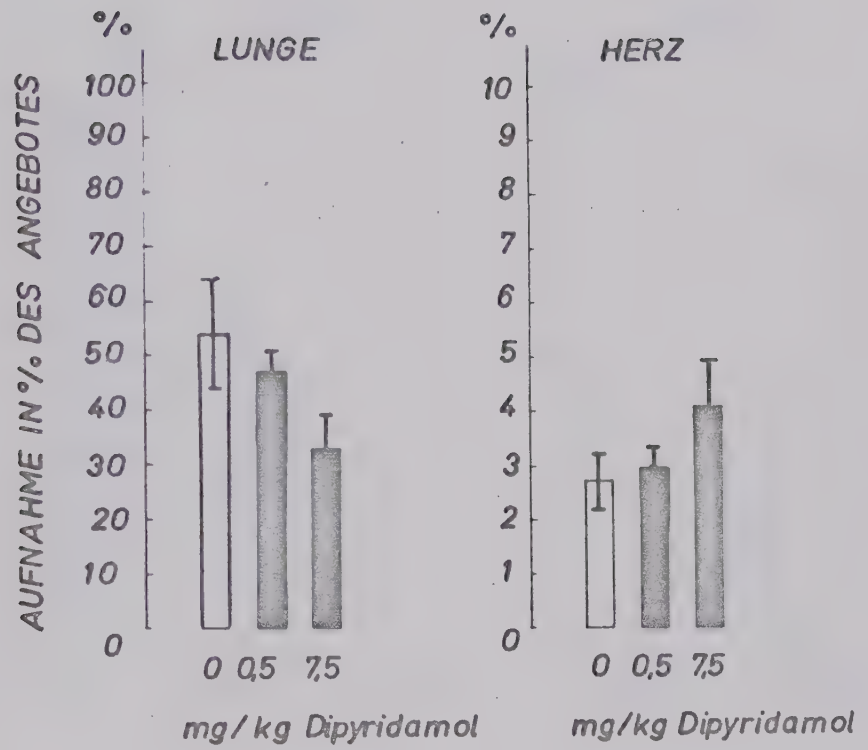


Abb. 17: Der Einfluß von Dipyridamol auf die Verteilung von i. v. zugeführtem ^{14}C-Adenosin auf Lunge und Herz bei der Ratte.
(Die Tiere wurden 3 Minuten vorher mit Dipyridamol vorbehandelt. Die Adenosindosis betrug 1 µg.)

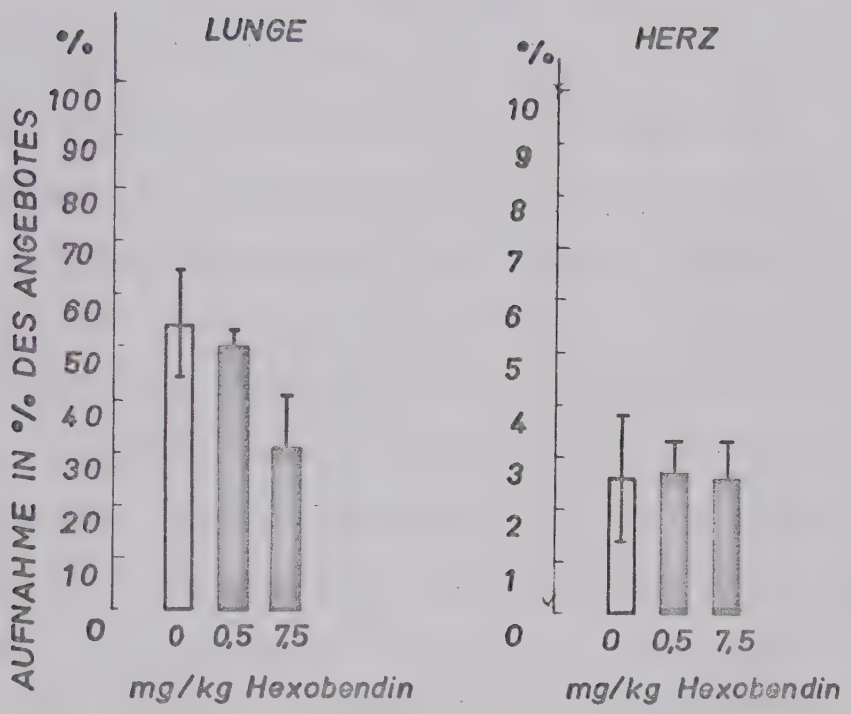


Abb. 18: Der Einfluß von Hexobendin auf die Verteilung von i. v. zugeführtem ^{14}C-Adenosin auf Lunge und Herz bei der Ratte.
(Die Tiere wurden 3 Minuten vorher mit Hexobendin vorbehandelt. Die Adenosindosis betrug 1 µg.)

Adenosindosen in das isolierte Herz nach der LANGENDORFF-Technik, so stellt man keinen Unterschied zwischen Meerschweinchen und Ratte fest. Von den Herzen beider Spezies werden bei einer einmaligen Perfusion durch das Herz ca. 30 % des angebotenen Adenosins aufgenommen (Abb. 19 zeigt die Adenosinaufnahme in das isolierte Rattenherz). Vergleichbare Untersuchungen für das Meerschweinchenherz sind bereits von KOLASSA et al. (8) veröffentlicht. Während sich die Adenosinaufnahme durch das Meerschweinchenherz bereits durch Konzentrationen von 10^{-8} Mol/Liter Dipyridamol oder Hexobendin in der Perfusionsflüssigkeit hemmen (15) bzw. durch 10^{-5} Mol/Liter fast vollständig verhindern läßt, kann man bei der Ratte selbst mit 10^{-5} Mol/Liter Dipyridamol oder Hexobendin die Adenosinaufnahme nicht beeinflussen. Eine noch höhere Konzentration beider Substanzen konnte aus Gründen der Löslichkeit in der Perfusionsflüssigkeit nicht geprüft werden.

Die Adenosinaufnahme in die Erythrozyten von Meerschweinchen, Ratte und Mensch zeigen die Abb. 20 - 24. Unter den gewählten Versuchsbedingungen werden nach einer Inkubationszeit von 9 Minuten beim Meerschweinchen 37 %, bei der Ratte 50 % und beim Men-

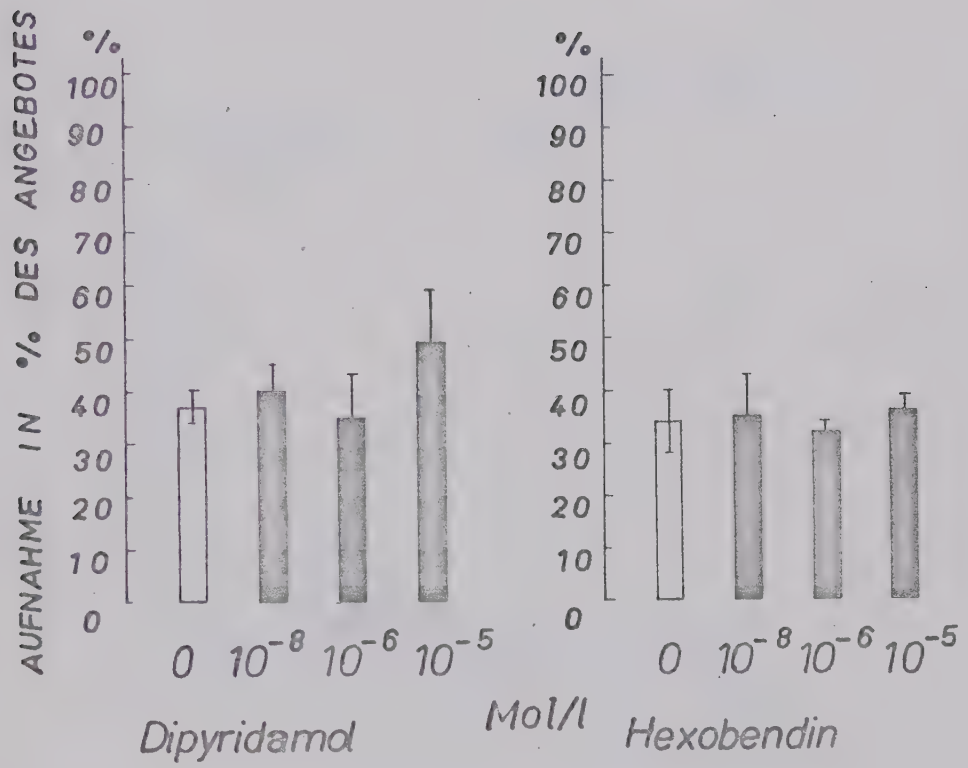


Abb. 19: Aufnahme von ^{14}C-Adenosin in das isoliert perfundierte Herz der Ratte.
(angeboten wurden 0,5 µg ^{14}C-Adenosin, Dipyridamol und Hexobendin wurden in den angegebenen Konzentrationen der Durchströmungsflüssigkeit zugesetzt).

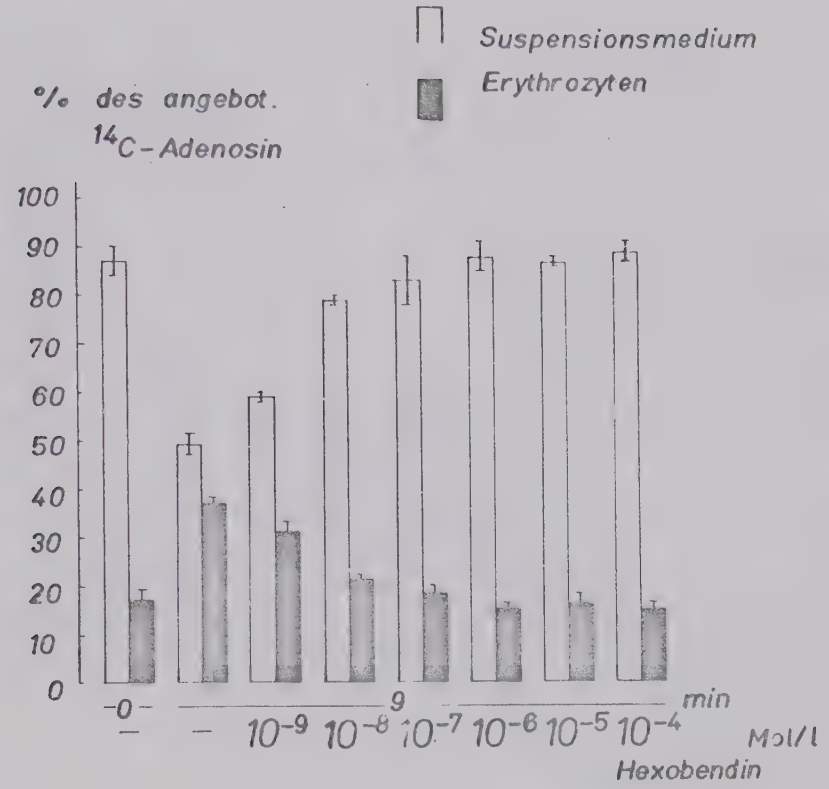


Abb. 20: Der Einfluß von Hexobendin auf die ^{14}C-Adenosin-Aufnahme durch Erythrocyten des Meerschweinchen.
Versuchstemperatur: 17° C
angeboten wurden: 1 µg/ml ^{14}C-Adenosin

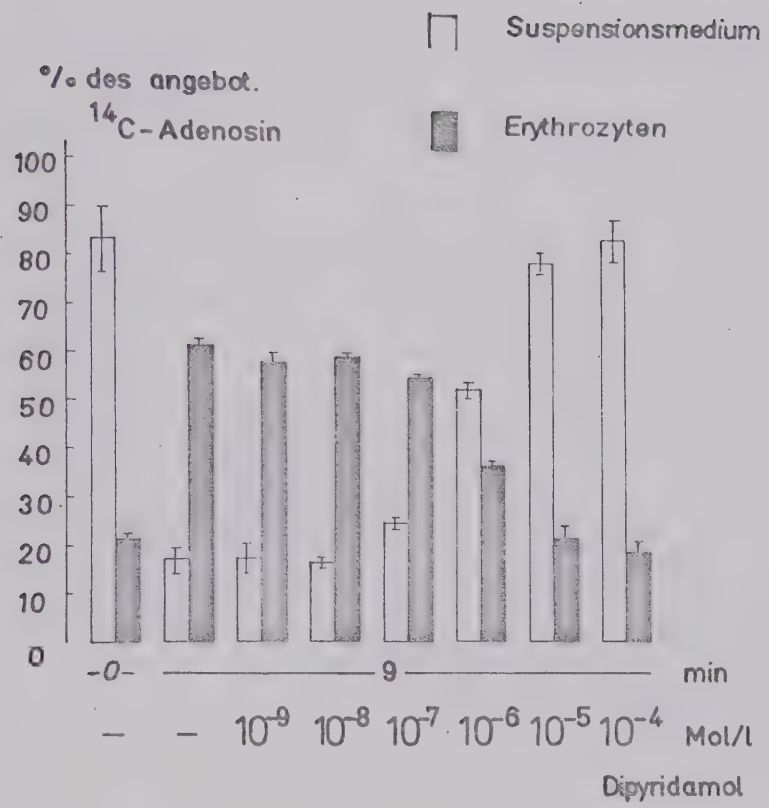


Abb. 21: Der Einfluß von Dipyridamol auf die ^{14}C-Adenosin-Aufnahme durch Erythrocyten der Ratte.
Versuchstemperatur: 17° C
angeboten wurden: 1 µg/ml ^{14}C-Adenosin

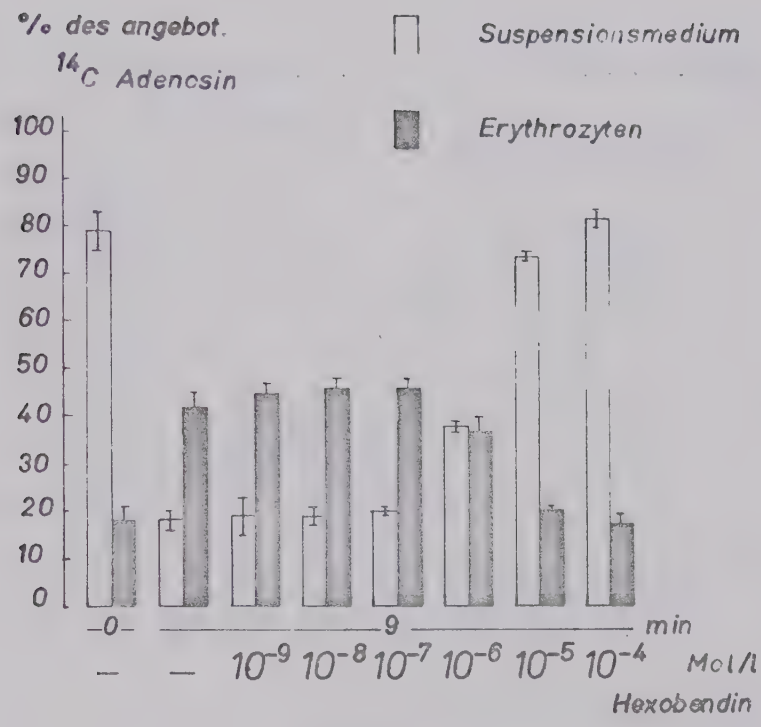


Abb. 22: Der Einfluß von Hexobendin auf die ^{14}C-Adenosin-Aufnahme durch Erythrocyten der Ratte.
Versuchstemperatur: 17° C
angeboten wurden: 1 µg/ml ^{14}C-Adenosin

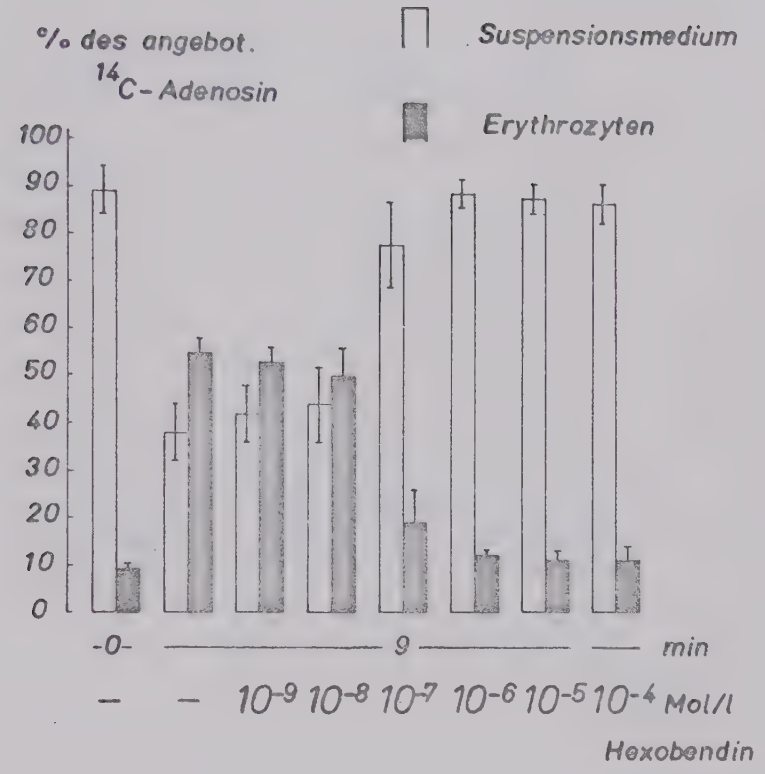


Abb. 23: Der Einfluß von Hexobendin auf die ^{14}C-Adenosin-Aufnahme durch Erythrocyten des Menschen.
Versuchstemperatur: 17° C.
angeboten wurden: 1 µg/ml ^{14}C-Adenosin

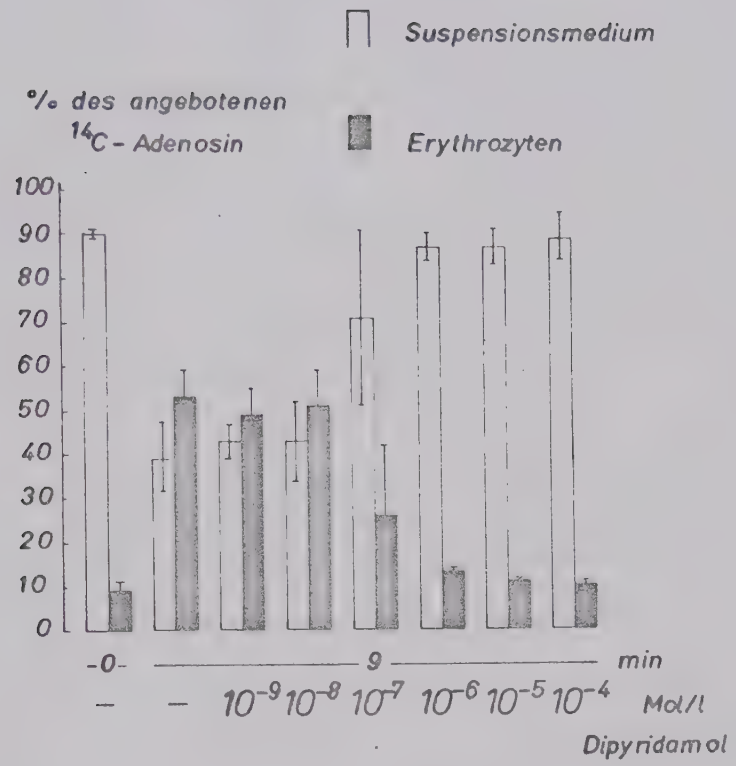


Abb. 24: Der Einfluß von Dipyridamol auf die ^{14}C-Adenosin-Aufnahme durch Erythrocyten des Menschen.
Versuchstemperatur: 17° C
angeboten wurden: 1 µg/ml ^{14}C-Adenosin

schen 54 % des zugesetzten Adenosins in der Erythrozytenfraktion gefunden. 9 % werden bei Menschen und 17 - 21 % bei Ratte und Meerschweinchen auch bei sofortiger Aufarbeitung der Proben bzw. nach Zusatz hoher Dipyridamol- oder Hexobendinkonzentrationen in dieser Fraktion nachgewiesen. Dieses Adenosin befindet sich in dem zwischen den abzentrifugierten Erythrozyten noch vorhandenen Suspensionsmedium bzw. ist an die Erythrozytenoberfläche adsorbiert.

Vergleicht man den ^{14}C-Gehalt der Erythrozytenfraktion oder des Suspensionsmediums bei verschiedenen Dipyridamol- oder Hexobendinkonzentrationen miteinander, so stellt man fest, daß eine etwa 50 %ige Hemmung der Adenosinaufnahme in die Erythrozyten beim Meerschweinchen bei 10^{-8} Mol/Liter, beim Menschen bei 10^{-7} Mol/Liter und bei der Ratte bei 10^{-6} Mol/Liter erreicht wird.

Die Versuche zeigen damit deutlich, daß der Aufnahmemechanismus für Adenosin beim Meerschweinchen durch 100 mal niedrigere Konzentration von Dipyridamol oder Hexobendin gehemmt werden kann als bei der Ratte. Der Mensch scheint eine Zwischenstellung einzunehmen.

DISKUSSION

Die Untersuchungen bestätigen den Hinweis von A. STAFFORD (20), daß Dipyridamol bei der Ratte im Gegensatz zum Meerschweinchen die Adenosinwirkung auf die Herzfrequenz nicht verstärkt, obwohl Adenosin bei beiden Spezies gleich wirksam ist (Abb.5, 9). Gleiche Adenosindosen senken bei beiden Spezies die Herzfrequenz um den gleichen Betrag. Auch Hexobendin, das bisher an der Ratte nicht untersucht wurde, ist unwirksam. Mit hoher Dosierung (7,5 mg/kg) läßt sich zwar mit Dipyridamol eine schwache Verstärkung des Adenosineffektes auf die Herzfrequenz zeigen (Abb. 11), jedoch nimmt diese bei einer weiteren Dosiserhöhung (22,5 mg/kg) nicht zu (Abb. 13). Es ist deshalb daran zu denken, daß bei dieser Dosierung auch Nebenwirkungen der Substanzen hervortreten. Diese zeigen sich beim Hexobendin in einer deutlichen Herabsetzung der Herzfrequenz auf die Hälfte. Die Adenosinwirkung wird durch diese hohe Hexobendindosis sogar abgeschwächt.

Die Unwirksamkeit von Dipyridamol oder Hexobendin bei der Ratte findet durch das Studium der ^{14}C-Adenosinaufnahme in das isolierte Herz und in die Lunge nach i. v. Applikation eine hinreichende Er-

klärung: Bei der Ratte wird die Adenosinaufnahme in das isolierte Herz selbst durch eine Dipyridamol- oder Hexobendinkonzentration im Perfusat, die 1000 mal höher ist, als für eine 50 %ige Herabsetzung beim Meerschweinchen benötigt wird, nicht verändert (Abb. 19).

Die ^{14}C-Adenosinaufnahme in die Lunge kann zwar auch bei der Ratte durch Dipyridamol oder Hexobendin vermindert werden, jedoch sind hierzu 10 - 100-fach höhere Dosen notwendig (Abb. 15 - 18). Mit dieser hohen Dosierung war - wie bereits diskutiert - auch eine geringe Verstärkung der Adenosinwirkung auf die Herzfrequenz beobachtet worden.

Hervorzuheben ist, daß das Herz der Ratte gegenüber Dipyridamol oder Hexobendin besonders unempfindlich zu sein scheint, obwohl die Adenosinaufnahme in die Erythrozyten der Ratte ebenfalls hemmbar ist. Allerdings sind, um die gleiche Hemmwirkung wie beim Meerschweinchen zu erzielen (Abb. 20), 100-fach höhere Konzentrationen notwendig (Abb. 21 - 22).

Die Lunge beider Spezies scheint einen ähnlichen Empfindlichkeitsunterschied um den Faktor 100

aufzuweisen. Aus methodischen Gründen läßt sich dieser Unterschied an der Lunge nicht mit der gleichen Genauigkeit wie bei den Erythrozyten bestimmen.

Sucht man die Konzentration von Dipyridamol oder Hexobendin, die die Adenosinaufnahme beim Erythrozyten des Menschen auf die Hälfte herabsetzt (Abb. 23, 24) und die gleich wirksame Konzentration bei Ratte und Meerschweinchen, so liegt diese zwischen der von Meerschweinchen und Ratte. Wir glauben jedoch, daß die Empfindlichkeit des Adenosinaufnahmemechanismus des Menschenerythrozyten gegenüber Dipyridamol oder Hexobendin dem des Meerschweinchenerythrozyten sehr ähnlich ist.

Inzwischen durchgeführte Untersuchungen über das Schicksal des in die Erythrozyten aufgenommenen Adenosins zeigen nämlich, daß von allen 3 Spezies die Erythrozyten des Menschen den aktivsten Aufnahmemechanismus besitzen (18). Es ist deshalb anzunehmen, daß die gewählte Inkubationszeit von 9 Minuten für das Studium der Aufnahmehemmung beim Erythrozyten des Menschen zu lang war, und sich bei einer kürzeren Inkubationszeit bereits bei einer niedrigeren Dipyridamol- oder Hexobendinkonzentration eine 50 %ige Hemmung ergeben würde.

Setzt man die an den Erythrozyten der 3 Spezies beobachtete Empfindlichkeit gleich der Wirksamkeit der beiden Coronardilatatoren, so ergibt sich folgende Reihenfolge der Empfindlichkeit für Dipyridamol oder Hexobendin:

Meerschweinchen > Mensch > Ratte

Die Adenosinhypothese des Wirkungsmechanismus der Coronardilatatoren findet durch die Speziesunterschiede von Ratte und Meerschweinchen die erwartete zusätzliche Stütze. Dipyridamol oder Hexobendin verstärken an der Ratte die Wirkung i. v. zugeführten Adenosins nicht, weil sie die Adenosinelimination im Rattenherz überhaupt nicht und in der Lunge und durch die Erythrozyten erst bei hoher Dosierung zu hemmen vermögen.

Eine Erklärung für diesen Speziesunterschied kann zum gegenwärtigen Zeitpunkt nicht gegeben werden. Ähnliche Speziesunterschiede der Empfindlichkeit sind zwischen Meerschweinchen und Ratte auch für die Herzglycoside bekannt. Wie bei den Herzglycosiden (19) brachten auch Stoffwechseluntersuchungen über den Stoffwechsel von Hexobendin an der Ratte keine Erklärung für die unterschiedliche

Empfindlichkeit. Im Meerschweinchenblut wird Hexobendin sogar schneller als im Rattenblut abgebaut (17). Die Wirksamkeit von Hexobendin am isolierten Meerschweinchenherz macht es unwahrscheinlich, daß ein im Stoffwechsel beim Meerschweinchen, aber nicht bei der Ratte entstehender Metabolit, für die Wirkung verantwortlich ist.

Neuere Untersuchungen zeigten allerdings, daß Hexobendin an das Meerschweinchenherz besser gebunden wird als an das Rattenherz (18). Da sich beide Spezies hinsichtlich der Adenosinaufnahme nicht voneinander unterscheiden (Abb. 15 - 18), könnte dieser Befund zur Aufklärung der Ursachen der Speziesunterschiede von Bedeutung sein.

ZUSAMMENFASSUNG

Werden bei der Ratte und dem Meerschweinchen 50 - 100 µg/kg Adenosin i. v. verabreicht, so kommt es in Abhängigkeit von der Dosis zur Herzfrequenzverlangsamung. Diese Adenosinwirkung kann beim Meerschweinchen, aber nicht bei der Ratte durch Dipyridamol (Persantin^{R}) oder Hexobendin (Ustimon^{R}) potenziert werden.

Die Ursachen für diesen Speziesunterschied konnten aufgeklärt werden:

1. Beim Meerschweinchen wird die Aufnahme von Adenosin durch die Lunge bereits durch 0,1 mg/kg Dipyridamol oder Hexobendin gehemmt. Bei der Ratte sind 7,5 mg/kg notwendig.
2. Die Adenosinaufnahme in das isolierte Meerschweinchenherz wird bereits durch 10^{-8} Mol/Liter Durchströmungsflüssigkeit Dipyridamol oder Hexobendin auf die Hälfte herabgesetzt, während beim isolierten Rattenherz eine Dipyridamol- oder Hexobendinkonzentration von 10^{-5} Mol/Liter ohne Einfluß war.

Durch diese Untersuchungen wird die Vorstellung unterstützt, daß Adenosin am Herzen extrazellulär angreift. Die Potenzierung der Adenosinwirkung durch Dipyridamol oder Hexobendin kommt dadurch zustande, daß diese

Stoffe die Adenosinaufnahme hemmen, so daß die affektive Adenosinkonzentration im Extrazellulärraum höher ist als ohne diese Stoffe.

Auch zwischen den Erythrozyten von Meerschweinchen und Ratte zeigte sich ein Empfindlichkeitsunterschied. Während beim Erythrozyten des Meerschweinchens durch 10^{-9} Mol/Liter Dipyridamol oder Hexobendin die Adenosinaufnahme herabgesetzt werden kann, ist dafür bei der Ratte eine 1000-fach höhere Konzentration notwendig. Die Erythrozyten des Menschen nehmen in der Hemmbarkeit der Adenosinaufnahme eine Mittelstellung zwischen denen des Meerschweinchens und der Ratte ein.

LITERATUR

1. BRAY, G.A.: A simple efficient liquid scintillator for counting aqueous solutions in a liquid scintillation counter. Anal. Biochem. 1, (1960): 279 - 285

2. BRETSCHNEIDER, H.J., FRANK, A., BERNARD, U., KOCHSIEK, K. und SCHELER, F.: Die Wirkung eines Pyrimidopyrimidin-Derivates auf die Sauerstoffversorgung des Herzmuskels. Arzneim. Forsch. 9, (1959): 49 - 59

3. BRETSCHNEIDER, H.J.: Zur pharmakologischen Behandlung coronarer Durchblutungsstörungen. Dtsch. Med. J. 13, (1962): 457 - 462

4. DEUTICKE, B. und GERLACH, E.: Kompetitive Hemmung der Adenosindesaminase als mögliche Ursache der Coronardilatierenden Wirkung einer Pyrimidopyrimidin-Verbindung. Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmak. exp. Path. 255, (1966): 107 - 119

5. GERLACH, E. und DEUTICKE, B.: Bildung und Bedeutung von Adenosin in dem durch Sauerstoffmangel geschädigten Herzmuskel unter dem Einfluß von 2,6-Bis (diäthylamino)-4,8-dipiperidino-pyrimido-(5,4-d)-pyrimidin. Arzneim. Forsch. 13, (1963): 48 - 50

6. GERLACH, E., DEUTICKE, B. und DREISBACH, R.: Der Nucleotid-Abbau im Herzmuskel bei O_2-Mangel und seine mögliche Bedeutung für die Coronardurchblutung. Naturwissensch. 50, (1963): 228 - 229

7. HILGER, H.H.: Experimentelle Prüfung von Coronardilatatoren am Menschen. Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmak. exp. Path. 263, (1969): 168 - 184

8. KOLASSA, N., PFLEGER, K. und RUMMEL, W.: Specificity of adenosine uptake into the heart and inhibition by dipyridamole. European J. Pharmacol. (1970): im Druck

9. KOSS, F.W., BEISENHERZ, G. und MAERKISCH, R.: Die Eliminierung von Adenosin aus dem Blut unter dem Einfluß von 2,6-Bis (diäthylamino)-4,8-dipiperidino-(5,4-d)-pyrimidin und Papaverin. Arzneim. Forsch. 12, (1962): 1130 - 1131

10. KRAUPP, O., WOLNER, E., ADLER-KASTNER, L., PLOSZEZANSKI, B. und TUISL, E.: Die Wirkung von N,N'-Dimethyl-N,N'-bis 3-(3',4',5'-trimethoxybenzoxy)-propyl -äthylendiamindihydrochlorid auf den Herzstoffwechsel. Arzneim. Forsch. 15, (1965): 1187 - 1196

11. KRAUPP, O.: Zum Wirkungsmechanismus der Coronardilatatoren. Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmak. exp. Path. 263, (1969): 144 - 155

12. KÜBLER, W. und BRETSCHNEIDER, H.J.: Kompetitive Hemmung der katalysierten Adenosindiffusion als Mechanismus der coronarerweiternden Wirkung eines Pyrimidopyrimidin-Derivates. Pflüger's Arch. 280, (1964): 141 - 157

13. LANGENDORFF, O.: Experimente am überlebenden Warmblüterherzen. Pflüger's Arch. 61, (1895): 291 - 332

14. PFLEGER, K., NIEDERAU, D. und VOLKMER, I., unter Mitarbeit von H. STORCK: Ein Beitrag zum Wirkungsmechanismus von Dipyridamol: Hemmung der Adenosinaufnahme in Erythrozyten durch Dipyridamol. Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmak. exp. Path. 265, (1969): 118 - 130

15. PFLEGER, K., VOLKMER, I. und KOLASSA, N., unter Mitarbeit von H. STORCK: Hemmung der Aufnahme von Adenosin und Verstärkung seiner Wirkung am isolierten Warmblüterherzen durch coronarwirksame Substanzen. Arzneim. Forsch. 12, (1969): 1972 - 1974

16. PFLEGER, K. und SCHÖNDORF, H., unter Mitarbeit von H. STORCK: Zur Aufklärung des Wirkungsmechanismus von Dipyridamol. Arzneim. Forsch. 19, (1969): 97 - 98

17. PFLEGER, K. und KOLASSA, N.: Speziesunterschiede bei der Spaltung von Hexobendin durch Plasmaesterasen. Biochem. Pharmacol. (1970): im Druck

18. PFLEGER, K. und KOLASSA, N.: Über das Schicksal des in Erythrozyten aufgenommenen Adenosins. in Vorbereitung

19. REPKE, K., EST, M. und PORTIUS, H.J.: Über die Ursache der Speziesunterschiede in der Digitalisempfindlichkeit. Biochem. Pharmacol. 14, (1965): 1785 - 1802

20. STAFFORD, A.: Potentiation of adenosine and the adenine nucleotides by dipyridamole. Br. J. Pharmacol. Chemotherapie 28, (1966): 218 - 227

21. STORMANN, H.: Die Wirkung von N,N'-Dimethyl-N,N'-bis-3-(3',4',5'-trimethoxybenzoxy)-propyläthylendiamin-dihydrochlorid (Hexobendin) auf den Adenosin-Abbau. Arzneim. Forsch. 16, (1966): 705 - 707

Ich danke der Deutschen Forschungsgemeinschaft, daß sie mir die zu Untersuchungen notwendigen Meßgeräte zur Verfügung gestellt hat.

Herrn Professor Dr. Rummel danke ich dafür, daß er es mir ermöglicht hat, die Arbeit in seinem Institut durchzuführen sowie für wertvolle Unterstützung.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Professor Dr. Pfleger für die Überlassung des Themas sowie Anleitung und Beratung bei der Durchführung der Versuche und beim Abfassen der Arbeit.

Lebenslauf

Am 11. November 1941 wurde ich, Martin Träm, als Sohn der Eheleute Fritz Träm und Mathilde geb. Bock in Schiffweiler geboren.

Von 1947 bis 1951 besuchte ich die Volksschule in Schiffweiler, danach das Humanistische Gymnasium in St. Wendel, an dem ich am 16. März 1962 die Reifeprüfung ablegte.

Nach Ableistung eines freiwilligen zweijährigen Wehrdienstes studierte ich vom Sommersemester 1964 an Medizin an der Medizinischen Fakultät der Universität des Saarlandes und bestand hier am 30. Juni 1970 die ärztliche Prüfung.

Seit dem 15. August 1970 bin ich als Medizinalassistent auf der Chirurgischen Abteilung der Krankenanstalten der Saarknappschaft, Klinik Quierschied, tätig.